动 物 学 研 究 2005, Oct. 26 (5): 527-533 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

猫腰髓白质年龄相关的形态学变化

朱再满，张长征，罗勋，孙庆艳，梅斌，华田苗*
（安徽师范大学 生命科学学院，安徽 芜湖 241000）

摘要：以青年成年猫（1~3龄，2~2.5 kg）和老年猫（12龄，3~3.5kg）L_6段脊髓白质为研究对象，用神经丝蛋白（NF）免疫染色显示神经纤维，用改良的Holzer结晶紫染色显示所有胶质细胞并用成年动物Golgi法显示其形态，用胶质纤维酸性蛋白（GFAP）免疫染色显示星形胶质细胞。光镜下对青年猫与老年猫腰髓白质中神经纤维和胶质细胞进行形态学观察和定量研究。与青年猫相比，老年猫腰髓白质中的神经纤维密度显著下降（$P<0.01$），NF免疫反应阳性较弱；胶质细胞密度显著增加（$P<0.01$）；GFAP免疫阳性细胞密度显著增加（$P<0.01$），GFAP阳性细胞阳性反应较强，胞体明显膨大，突起稠密粗大。表明猫在衰老过程中，脊髓白质中有神经纤维丢失及胶质细胞增生现象。提示动物在衰老过程中脊髓白质的神经纤维丢失可能是脊髓传导功能衰退的直接原因；白质中胶质细胞的增多与活动增强可能是对神经纤维丢失的补偿性增生，并可延缓脊髓的衰老。

关键词：猫；脊髓；神经纤维；胶质细胞；星形胶质细胞；年龄相关变化
中图分类号：Q959.832；Q419 **文献标识码**：A **文章编号**：0254-5853（2005）05-0527-07

Age-related Morphological Changes in the White Matter of Cat Lumbar Spinal Cord

ZHU Zai-man, ZHANG Chang-zheng, LUO Xun, SUN Qing-yan, MEI Bin, HUA Tian-miao*
(College of Life Sciences, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China)

Abstract: In order to investigate age-related morphological changes in the white matter of the lumbar spinal cord in young adult and old cats, several techniques were used. (1) Immunostaining of neurofilaments (NF) was used to identify nerve fibres; (2) modified Holzer crystal violet to show all the glial cells; (3) immunoreaction of glial fibrillary acid protein (GFAP) to exhibit the astrocytes; (4) the Golgi method to display the morphology of glial cells and astrocytes in the white matter. Under the microscope, the fibres and glial cells were observed and quantitatively studied. Compared with young cats, old cats showed significantly lower density of nerve fibres ($P<0.01$)and weaker staining of the NF immunoreactivity. However, the density of glial cells and astrocytes($P<0.01$)in old cats is significantly greater than in young adult cats. In addition, astrocytes in old cats were more hypertrophic, with stronger immunoreactivity of GFAP substance than in young ones. This indicates that there is a loss of nerve fibres accompanied by an obvious glial hyperplasia in the white matter of the aging cat spinal cord. The above results suggest that the loss of nerve fibres in the white matter of old cats may be an important factor that underlies the functional decline of signal transmission and processing in the spinal cord during ageing. The activity enhancement of glial cells in old cats may provide a protective effect on surviving nerve fibers from further degradation during senescence.

Key words: Cat; Spinal cord; Nerve fibre; Glial cell; Astrocyte; Age-related change

脊髓白质由神经纤维和神经胶质网组成，是大脑皮层高级中枢调节全身生理活动的信息传导通

收稿日期：2005-02-28；接受日期：2005-06-18
基金项目：安徽省自然科学基金（98241716）；安徽省教育厅科研基金（2003kj152）；安徽省重要生物资源保护与利用研究重点实验室科研基金；安徽师范大学青年基金（2004xqn09）
* 通讯作者（Corresponding author），E-mail:tmhua@mail.ustc.edu.cn，Tel：0553-3869669

道。随着动物的衰老，脊髓的传导功能呈明显的年龄性衰退，主要表现为传导速度的下降（Wang，1986）。有研究发现小鼠（Uchida et al，2002）和人（Zhang et al，1995；Zhou et al，1997）脊髓白质的形态结构有明显的年龄性变化，表现为横截面积变小、有髓纤维的直径变小、密度降低以及数目减少等。脊髓白质中联系脑的上、下纵行纤维束形态结构的年龄性变化必然会对脊髓的传导功能产生影响。脊髓白质中的神经胶质细胞是维持脊髓内环境稳定的主要调节因子，对神经纤维的支持、营养等具重要作用（Jessen，2004）。胶质细胞在中枢神经系统多个区域的年龄相关变化已有报道，但存在分歧：大多认为老年个体胶质细胞的数量及形态皆有变化（Linnemann & Skarsfelt，1994；Sabbatini et al，1999）；也有研究认为只是形态的改变，数量无显著性变化（Sloane et al，2000），脊髓白质中胶质反应的年龄性变化未见报道。本实验以青年猫和老年猫腰髓白质为研究对象，采用常规组织学染色及免疫组织化学染色方法，对青年猫和老年猫腰髓白质中神经纤维及胶质细胞进行了形态学观察和定量研究，以期为研究脊髓年龄相关的功能衰退机制积累形态学资料。

1 材料与方法

1.1 材 料

青年成年猫（1～3龄，2～2.5 kg）和老年猫（10～12龄，3～3.5 kg）各4只，先在实验室内放养1周，以消除紧张，随后观察猫的运动和感觉行为2～3周，确定无异常。盐酸氯胺酮（40 mg/kg体重）将猫深麻醉，开胸后经左心室插管至升主动脉，灌注0.9%的生理盐水，至肝脏发白后灌注约500 mL的4%多聚甲醛进行预固定，取脊髓L_6段，移入上述固定液，室温（15～25 ℃）固定20～24 h，横断成两组。一组用PBS（0.1 mol/L，pH 7.4）冲洗，常规脱水、透明、石蜡包埋，连续冠状切片，厚6 μm，分4套，裱片于经APES处理的载玻片上，分别用于Holzer染色、免疫组织化学染色及阴性对照实验；另一组横切成5 mm厚块状，备Golgi染色。

1.2 组织学染色

1.2.1 Holzer改良法（Sobin，1992） 取青年猫和老年猫脊髓L_6段对应部位切片，脱蜡复水后至0.5%磷钼酸液中（无水乙醇配制）3 min；流水冲洗后置于4∶1氯仿乙醇混和液中至半透明；浸入以4∶1氯仿乙醇混和液配制的5%结晶紫染液10 min；于1∶1.5苯胺氯仿混和液中洗去结晶紫沉淀物；移入10%溴化钾溶液（蒸馏水配制）淡化背景2 min；流水充分洗涤；脱水透明，封片如常。

1.2.2 成年动物Golgi法（Ju et al，1985） 厚5 mm的组织块于媒染液中（中性福尔马林10 mL、重铬酸钾4 g、水化氯醛4 g、双蒸水90 mL配制）室温下媒染24 h；取出经蒸馏水短促涮洗，移入数碟0.75%硝酸银中至无棕红色铬酸银沉淀，再移入宽裕的0.75%硝酸银室温下避光镀染2周；石蜡包埋，冠状切片60 μm；移切片依次于70%、90%乙醇中各2 min，再入无水乙醇中5 min×2次，于冬青油中透明至切片下沉；移入二甲苯2 min×2次，除去油及乙醇，贴片于载玻片上，中性树胶封片。

1.3 免疫组织化学染色

青年猫和老年猫脊髓L_6段对应部位切片两组，分别用于NF和GFAP免疫组织化学染色。切片脱蜡至水，3% H_2O_2室温孵育5 min；蒸馏水冲洗，PBS浸泡5 min（此步后NF需抗原热修复，NF采用的是鼠抗试剂盒，GFAP采用的是兔抗试剂盒，后面染色步骤二者相同）；滴加正常山羊血清，室温孵育10 min；倾去血清，勿洗，滴加一抗（鼠抗人即用型NF抗体或兔抗人即用型GFAP抗体）37 ℃孵育1 h；滴加生物素标记二抗（IgG抗血清），37 ℃孵育10 min；滴加辣根酶标记三抗（链酶卵白素，ABC），37 ℃孵育10 min。以上滴加抗体步骤均用PBS冲洗5 min×3次；DAB显色（GFAP免疫染色切片苏木精轻度复染），自来水冲洗，脱水，透明，封片。阴性对照实验组采用正常山羊血清代替一抗，其余步骤分别同NF和GFAP免疫染色。实验所用NF鼠抗人血清、GFAP兔抗人血清及免疫组织化学SP试剂盒、DAB均购于Zymed公司。

1.4 观察和统计分析

切片染色后于光镜下观察、计数、拍照。对Holzer染色和GFAP染色的切片，光镜下（400×）每张切片前索、外侧索、后索分别随机选8个视野，记数采集网格（125 μm×125 μm）中胶质细胞、GFAP免疫阳性（GFAP-IR）细胞数目；对NF染色切片，油镜下（1 000×）每张切片各索分别随机选8个视野，记数采集网格（50 μm×50 μm）中神经纤维数目。所得数据取平均值后换算成密度

（细胞数/mm^2 或纤维数/mm^2），并以均值 ± 标准差表示，用 t-test 检验青、老年猫之间差异显著性。

2　结　果

2.1　青年与老年猫腰脊髓白质中神经纤维的形态和密度比较

脊髓白质各索中神经纤维皆呈 NF 阳性，纤维横断面的形态清晰可见。低倍镜下纤维呈点状分布，高倍镜下可见纤维断面形态不规则，纤维中免疫反应阳性产物呈棕黄色，有髓纤维的髓鞘透明无色（图 1、2）。与青年猫相比，老年猫神经纤维中 NF 免疫阳性明显较弱，各索中神经纤维的密度显著下降（$P<0.01$）（表 1），其中前索下降 12.26%，外侧索下降 13.79%，后索下降 11.46%。阴性对照组未见阳性纤维（图 3、4）。

表 1　猫腰髓白质中的神经纤维密度　（纤维数/mm^2）（$\bar{\chi} \pm S$）

Tab. 1　Density of nerve fibers in the white matter of cat lumbar spinal cord　（fibers/mm^2）（$\bar{\chi} \pm S$）

	青年猫 Young cat	老年猫 Old cat
前索 Funiculus anterior	351 36.7 ± 34 03.3	308 26.3 ± 462 7.8*
外侧索 Funiculus lateralis	383 47.2 ± 500 6.8	330 55.8 ± 584 5.1*
后索 Funiculus posterior	186 68.2 ± 268 8.3	165 27.9 ± 221 7.2*

* $P<0.01$（t-test）。

2.2　青年与老年猫腰脊髓白质中胶质细胞的密度和免疫反应性比较

Holzer 染色可清晰显示脊髓白质中的所有胶质细胞，胞体深染成蓝紫色，分布于蓝色小点状神经纤维的间隙（图 5、6），高倍镜下可见老年猫胶质细胞胞体略大于青年猫，各索中胶质细胞的密度均显著增加（$P<0.01$）（表 2）。GFAP 免疫染色切片可见棕褐色 GFAP-IR 星形胶质细胞，阳性产物遍布于胞浆及突起，其它类型胶质细胞经苏木精复染呈淡蓝色。与青年猫相比，老年猫 GFAP-IR 细胞免疫反应性明显增强（图 7、8），Golgi 染色显示其胞体明显膨大，突起稠密粗大（图 11、12）。老年猫 GFAP-IR 细胞密度显著大于青年猫（表 2），其中前索增加 26.66%，后索增加 22.04%，外侧索增幅高至 32.55%，老年猫 GFAP-IR 细胞占所有胶质细胞的比例亦有所增加。在脊髓白质外围边缘带，GFAP-IR 细胞相对密集，突起相互交织成网状，包绕于脊髓表层。而青年猫腰髓白质中 GFAP-IR 细胞阳性反应相对较弱，胞体较小，突起少而短。GFAP 免疫染色阴性对照组未见阳性（图 9、10）。

表 2　猫腰髓白质中的胶质细胞密度（细胞数/mm^2）（$\bar{\chi} \pm S$）

Tab. 2　Density of glial cells in the white matter of cat lumbar spinal cord（cells/mm^2）（$\bar{\chi} \pm S$）

	前索 Funiculus anterior		外侧索 Funiculus lateralis		后索 Funiculus posterior	
	青年猫 Young cat	老年猫 Old cat	青年猫 Young cat	老年猫 Old cat	青年猫 Young cat	老年猫 Old cat
胶质细胞 Glial cells	468.4 ± 62.9	550.6 ± 116.5*	573.6 ± 167.2	695.2 ± 118.6*	433.9 ± 75.1	502.9 ± 75.7*
星形胶质细胞 Astrocytes	221.9 ± 45.6	281.1 ± 43.3*	282.7 ± 54.9	374.7 ± 69.3*	208.7 ± 43.5	254.7 ± 50.6*

* $P<0.01$（t-test）。

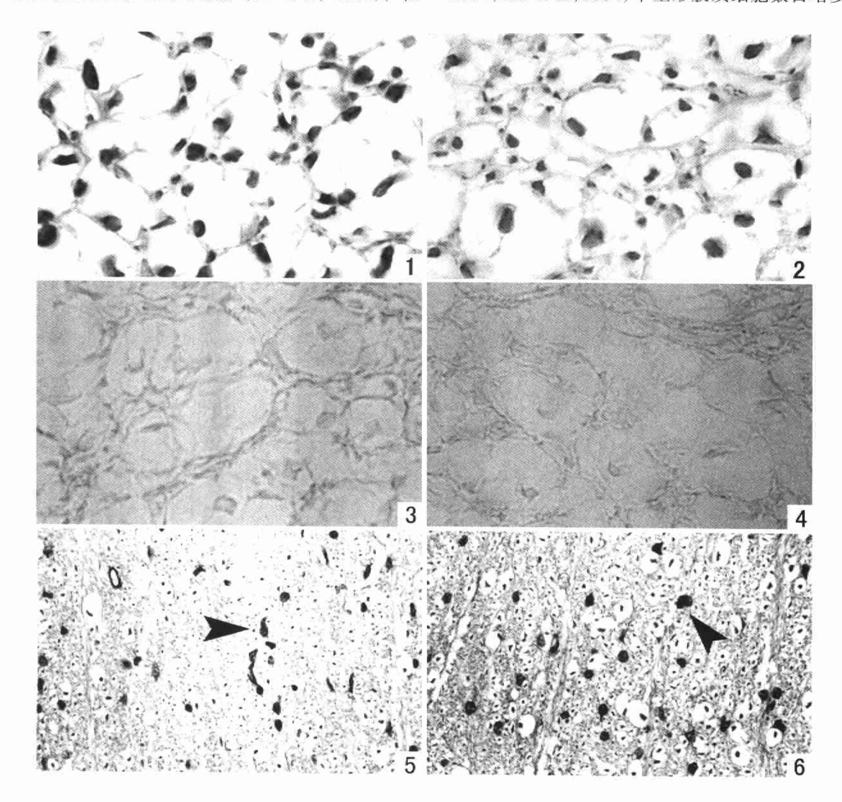
3　讨　论

神经丝蛋白（NF）是神经元胞体和突起的主要骨架成分，在保持神经元形态、维持神经元轴浆运输（Uchida et al，2002）及决定轴突的粗细（Elder et al，1999）等方面具重要作用。鉴此，本实验以 NF 标记脊髓白质神经纤维，显示其断面的形态。已有研究表明老年个体后根节（DRG）（Parhad et al，1995）、小脑（Vega et al，1994）、海马（Vickers et al，1994）、脑干（Zhang et al，1997，2000）等结构的神经元胞体及突起中 NF 的表达呈明显的年龄性减弱，导致神经元中 NF 的支持与运输功能衰退，突起萎缩，部分突起的形态难以维系而崩解（Elder et al，1998；Elder et al，1999）。本实验发现老年猫腰髓白质各索中 NF 表达均明显减弱，与上述报道一致。同时，本实验显示老年猫神经纤维的密度显著下降，提示由于老年个体轴索中 NF 的减少，轴索中的骨架系统支持能力下降，导致部分神经纤维变性、丢失。推测老年个体脊髓白质神经纤维变细及丢失，可能是老年个体脊髓传导能力下

降的直接原因。

脊髓白质中的神经胶质网由星形胶质细胞（astrocyte）、小胶质细胞（microglial）及少突胶质细胞（oligodendroglia）组成，其中星形胶质细胞占主导（Linda et al，2001）。中枢神经系统中，星形胶质细胞可产生多种胶质源性的细胞外基质，为神经元提供丰富的粘着基质，从而起支持作用；其伸向毛细血管的突起膨大形成血管周足，从血液中吸收营养物质输送给神经元并参与代谢产物的排出；同时周足也在神经元和血液之间形成屏障，选择性地让某些物质通过，保持神经元周围的微环境相对稳定，维持神经元正常的生理功能（Mo et al，2002）；在中枢神经系统损伤或缺血引起细胞凋亡或死亡时，胶质细胞出现反应性增生和生长，加速损伤的修复或补偿性生长（Caccuri et al，2003）。

胶质纤维酸性蛋白（glial fibrillary acid protein）是星形胶质细胞的特异性标志蛋白，其表达的高低可反映星形胶质细胞的功能状态（Bigini et al，2001）。本实验以GFAP标记星形胶质细胞，可清晰地显示其在不同时期的形态特征。免疫组织化学方法研究表明，在哺乳动物衰老或病理状态下大脑皮质（Linnemann & Skarsfelt，1994）、小脑皮质（Sabbatini et al，1999）及视网膜（Cavallotti et al，2004；Sun et al，2004）中星形胶质细胞数目增多，



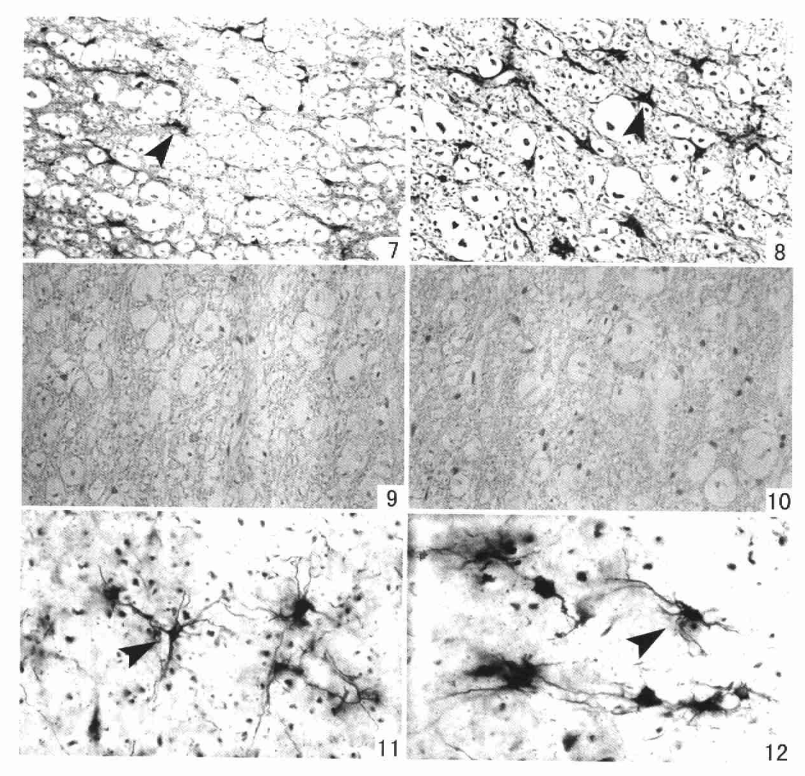


图 1—12 青年猫和老年猫腰髓白质中的神经纤维及胶质细胞

Figs. 1 – 12 Nerve fibers and glial cells in the white matter of young and old cat lumbar spinal cord

1，3，5，7，9，11：青年猫（Young cat）；2，4，6，8，10，12：老年猫（Old cat）。

1，2. 神经纤维，NF 免疫染色（Nerve fibers，NF immunohistochemical staining）×1 000；

3，4. NF 免疫染色阴性对照（The NF immunoreactive negative experiment）×1 000；

5，6. 胶质细胞（箭头），Holzer 染色（Glial cells，indicated by arrow，Holzer staining）×400；

7，8. 星形胶质细胞（箭头），GFAP 免疫染色（Astrocytes，indicated by arrow，GFAP immunohistochemical staining）×400；

9，10. GFAP 免疫染色阴性对照，苏木精复染（The GFAP immunoreactive negative experiment，restained by hematoxylin）×400；

11，12. 胶质细胞的形态（箭头），Golgi 染色（Shape of glial cells，indicated by arrow，Golgi staining）×400。

阳性反应增强，胞体膨大，且电镜观察发现增生的星形胶质细胞胶质纤维密度增大，细胞器数量增多（Ramirez et al，2001）。本实验结果显示老年猫腰髓白质中胶质细胞显著增生，免疫反应性增强，与以上报道一致，表明老年个体星形胶质细胞的功能增强。老年猫腰髓白质中星形胶质细胞与神经纤维密度呈相反变化，提示两者之间有内在的相关性，纤维丢失而产生的基质空缺可能会诱发星形胶质细胞的增生。在衰老过程中星形胶质细胞占胶质细胞总数的比例增加，表明星形胶质细胞较少突和小胶质细胞对衰老更敏感。Peters et al（1999）在衰老个体的星形胶质细胞胞体中发现神经纤维髓鞘的降解产物，表明星形胶质细胞在清除变性髓鞘的降解产物过程中具重要作用。推测在脊髓衰老过程中增

生的星形胶质细胞可以填充神经纤维丢失而产生的基质空缺，维持脊髓的形态；通过脊髓外围浅层增生的胶质网，从脊髓软膜毛细血管中摄取营养，增加对神经纤维的营养供给，从而延缓神经纤维的变性、衰老。老年个体中枢神经系统中星形胶质细胞反应性增生可能是维持其内稳态的一种补偿性机制(Kirchhoff et al，2001)。

脊髓白质中还有少量少突胶质细胞和小胶质细胞，其生物学功能与星形胶质细胞不同（Aloisi et al，2000)。少突胶质细胞主要是参与白质内神经纤维的髓鞘生成；小胶质细胞具吞噬功能，其活性可作为多种神经系统疾病及正常衰老的一项重要指标（Mattiace et al，1990；Sheng et al，1998)，在老年恒河猴中枢神经系统多个区域（Sloane et al，1999）发现小胶质细胞的数量显著增加，生理活性明显增强。脊髓白质中少突胶质细胞和小胶质细胞形态学及生理功能的年龄性变化有待于进一步研究。

致谢：感谢中国科技大学视觉研究实验室为我们提供珍贵的老年猫材料。

参考文献：

Aloisi F，Ria F，Adorini L. 2000. Regulation of T-cell responses by CNS antigen-presenting cells: different roles for microglia and astrocytes [J]. *Immunol Today*, **21** (3): 141-147.

Bigini P，Bastone A，Mennini T. 2001. Glutamate transporters in the spinal cord of the wobbler mouse [J]. *Neuroreport*, **12** (9): 1815-1820.

Caccuri RL，Iacono RF，Weissenbacher MC，Avila MM，Berria MI. 2003. Long-lasting astrocyte reaction to persistent Junin virus infection of rat cortical neurons [J]. *J Neural Transm*, **110** (8): 847-857.

Cavallotti C，Artico M，Pescosolido N，Leali FM，Feher J. 2004. Age-related changes in the human retina [J]. *Can J Ophthalmol*, **39** (1): 61-68.

Elder GA，Friedrich VL Jr，Bosco P，Kang C，Gourov A，Tu PH，Lee VM，Lazzarini RA. 1998. Absence of the mid-sized neurofilament subunit decreases axonal calibers, levels of light neurofilament (NF-L), and neurofilament content [J]. *J Cell Biol*, **141** (3): 727-739.

Elder GA，Friedrich VL Jr，Margita A，Lazzarini RA. 1999. Age-related atrophy of motor axons in mice deficient in the mid-sized neurofilament subunit [J]. *J Cell Biol*, **146** (1): 181-192.

Jessen KR. 2004. Glial cells [J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **36** (10): 1861-1867.

Ju G，Wan XC，Dong XW. 1985. Methods in Neuroanatomy [M]. Beijing: People's Medical Publishing House. [鞠 躬，万选才，董新文. 1985. 神经解剖学方法. 北京：人民卫生出版社.]

Kirchhoff F，Dringen R，Giaume C. 2001. Pathways of neuron-astrocyte interactions and their possible role in neuroprotection [J]. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, **251**: 159-169.

Linda RW，Erin DM，Steven FM. 2001. Spinal cord glia: New players in pain [J]. *Pain*, **93**: 201-205.

Linnemann D，Skarsfelt T. 1994. Regional changes in expression of NCAM, GFAP, and S100 in aging rat brain [J]. *Neurobiol Aging*, **15** (5): 651-655.

Mattiace LA，Davies P，Dickson DW. 1990. Detection of HLA-DR on microglia in the human brain is a function of both clinical and technical factors [J]. *Am J Pathol*, **136**: 1101-1114.

Mo YY，Jiang Y，Chen Y. 2002. Progress in the biological function of brain astrocytes [J]. *Development of Physiological Science*, **33** (1): 71-73. [莫永炎，姜 勇，陈 瑗. 2002. 脑星形胶质细胞生物学功能研究进展. 生理科学进展，**33** (1): 71-73.]

Parhad IM，Scott JN，Cellars LA，Bains JS，Krekoski CA，Clark AW. 1995. Axonal atrophy in aging is associated with a decline in neurofilament gene expression [J]. *J Neurosci Res*, **41**: 355-366.

Peters A，Josephson K，Vincent SL. 1991. Effects of aging on the neuroglial cells and pericytes within area 17 of the rhesus monkey cerebral cortex [J]. *Anat Rec*, **229**: 384-398.

Ramírez JM，Ramirez AI，Salazar JJ，de Hoz R，Triviño A. 2001. Changes of astrocytes in retinal ageing and age-related macular degeneration [J]. *Eye Research*, **73**: 601-615.

Sabbatini M，Barili P，Bronzetti E，Zaccheo D，Amenta F. 1999. Age-related changes of glial fibrillary acidic protein immunoreactive astrocytes in the rat cerebellar cortex [J]. *Mechanisms of Ageing and Development*, **108** (2): 165-172.

Sheng JG，Mrak RE，Griffin WS. 1998. Enlarged and phagocytic, but not primed, interleukin-1 (IL-1) alpha-immunoreactive microglia increase with age in normal human brain [J]. *Acta Neuropathologica*, **95** (3): 229-234.

Sloane JA，Hollander W，Moss MB，Rosene DL，Abraham CR. 1999. Increased microglial activation and protein nitration in white matter of the aging monkey [J]. *Neurobiology of Aging*, **20** (4): 395-405.

Sloane JA，Hollander W，Rosene DL，Moss MB，Kemper T，Abraham CR. 2000. Astrocytic hypertrophy and altered GFAP degradation with age in subcortical white matter of the rhesus monkey [J]. *Brain Research*, **862**: 1-10.

Sobin LH. 1992. AFIP Laboratory Methods in Histotechnology [M]. Washington: American Registry of Pathology, 102-104.

Sun QY，Mei B，Wang HT，Zhu ZM，Zhang CZ，Luo X，Hua TM，Liu ZQ. 2004. Age-related morphological changes in the retina of cat [J]. *Zool Res*, **25** (6): 537-542. [孙庆艳，梅 斌，王海涛，朱再满，张长征，罗 勋，华田苗，刘再群. 2004. 猫视网膜年龄相关的形态学变化. 动物学研究，**25** (6): 537-542.]

Uchida K，Baba H，Maezawa Y，Kubota C. 2002. Progressive changes in neurofilament proteins and growth-associated protein-43 immunoreactivities at the site of cervical spinal cord compression in spinal hyperostotic mice [J]. *Spine*, **27** (5): 480-486.

Vega JA，Valle MD，Amenta F. 1994. Expression of neurofilament proteins in the rat cerebellar cortex as a function of age: An immunohistochemical study [J]. *Mech Aging Dev*, **73** (1): 9-16.

Vickers JC，Biederer BM，Marugg RA，Buee-Scherrer V，Buee L，Delacourte A，Morrison JH. 1994. Alterations in neurofilament protein immunoreactivity in human hippocampal neurons related to normal aging and Alzeimer's disease [J]. *Neuroscience*, **62**: 1-13.

Wang F. 1986. Human and Animal Physiology [M]. Beijing: Higher Education Press. [王 玢. 1986. 人体及动物生理学. 北京：高等教育出版社.]

Zhang C, Goto N, Zhou M. 1995. Morphometric analyses and aging process of nerve fibers in the human spinal posterior funiculus [J]. *Okajimas Folia Anat Jpn*, **72** (5): 259-264.

Zhang JH, Sampogna SM, Moralesa FR, Chase MH. 1997. Age-related alterations in immunoreactivity of the midsized neurofilament subunit in the brainstem reticular formation of the cat [J]. *Brain Research*, **769**: 196-200.

Zhang JH, Sampogna SM, Moralesa FR, Chase MH. 2000. Age-Dependent Changes in the Midsized Neurofilament Subunit in Sensory-Motor Systems of the Cat Brainstem: An Immunocytochemical Study [J]. *The Journals of Gerontology* (*Series A*: *Biological Sciences and Medical Sciences*), **55**: 233-241.

Zhou M, Goto N, Otsuka N, Moriyama H, Nakamura Y. 1997. Morphometric analyses of axons in the lateral corticospinal tract with ageing process [J]. *Okajimas Folia Anat Jpn*, **74** (4): 133-138.

"烙铁头属蛇毒结构与功能研究"
荣获2004年度云南省科学技术奖（自然科学类）二等奖

由中国科学院昆明动物研究所熊郁良研究员主持研究的"烙铁头属蛇毒结构与功能研究"荣获2004年度云南省科学技术奖（自然科学类）二等奖。该项目利用我省丰富的烙铁头属蛇毒资源条件，从1985年开始，在中国科学院和云南省多项基金资助下，重点对烙铁头蛇毒血小板活化素TMVA，与血栓、冠心病相关的纤溶组分、激活纤溶组分、凝血酶样酶和止血组分、L-氨基酸氧化酶、去整合素、磷脂酶A等进行较系统的结构功能和开发利用研究，首先报道烙铁头蛇毒纤溶组分，为血栓第二代治疗药物研究开辟了新的途径。先后发表学术论文49篇，其中SCI收录论文18篇，被国内外引用65次，在国际学术会议上报告4次。其中作为筛选血小板活化药物模型和诊断血小板功能缺陷性疾病试剂的TMVA已临床应用，被证明优于目前国内外常用ADP、AA和PAF。

该项目通过对烙铁头蛇毒较系统的结构功能研究，发现了一系列具有生理活性和药物开发前景的毒素成分，对毒素资源的开发利用做了成功探索，在国内外已形成一定特色，在理论上有较重大的意义和新的发现，并有显著的利用前景，成果显著。

王桂兰
（中国科学院昆明动物研究所计财处 650223）